

На правах рукописи

АБУЗАРОВА Эльмира Ренардовна

**ОСОБЕННОСТИ ГЕНОТИПОВ *HELICOBACTER PYLORI* И
ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ (*IL-1* И
IL-10) У БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЖЕЛУДКА И
ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ**

03.00.07 - микробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань-2008

Работа выполнена в лаборатории молекулярных основ патогенеза Казанского института биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук

Научный руководитель: доктор биологических наук
Чернова Ольга Александровна

Научный консультант: доктор медицинских наук
Абдулхаков Рустем Аббасович

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
член-корреспондент АН РТ
Киясов Андрей Павлович
(Казанский государственный
медицинский университет, г.Казань)

доктор биологических наук, профессор
Ишмухаметова Диляра Галимовна
(Казанский Государственный Университет
им. Ульянова-Ленина, г.Казань)

Ведущая организация: ГОУ ДПО «Казанская Государственная
Медицинская академия», г.Казань

Защита состоится «__» октября 2008 года в «___» часов на заседании диссертационного совета Д 212.081.08 при Казанском государственном университете им. В.И.Ульянова-Ленина по адресу: 420008, г.Казань, ул. Кремлевская, д. 18, главное здание, ауд. 211.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И.Лобачевского Казанского государственного университета.

Автореферат разослан «___» сентября 2008 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Абрамова З.И.

Актуальность проблемы. *Helicobacter pylori* является одной из наиболее изучаемых бактерий в мире в настоящее время. Носителем *H.pylori* является почти каждый второй житель планеты. Инфицирование возможно как непосредственно от человека или животных, так и опосредованно, в том числе через эндоскопические аппараты и стоматологические инструменты [Fontham, 1995; Feldman, 1998; De Schryver *et al.*, 2001].

Для большинства инфицированных характерно бессимптомное носительство. Вместе с тем предполагается наличие взаимосвязи между инфекцией *H.pylori* и рядом заболеваний у человека [Bohr *et al.*, 2007]. Однако пока доказана связь инфицирования слизистой оболочки желудка (СОЖ) человека *H.pylori* с гастродуоденальной патологией – В-клеточной лимфомой, хроническим гастритом, а также язвенной болезнью (ЯБ) желудка и двенадцатиперстной кишки [Van Doorn *et al.*, 1998] – одним из наиболее распространенных заболеваний желудочно-кишечного тракта у человека [Ивашкин и др., 2003; Григорьев, Яковенко, 2004].

Основным документом, определяющим показания и подходы к лечению язвенной болезни желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ЯБДК), ассоциированной с *H.pylori*, является Маастрихтский консенсус II и III [Malfertheiner *et al.*, 2002, 2005]. Однако в большинстве случаев результат применения соответствующих схем лечения не достигает необходимых 80% [Malfertheiner *et al.*, 2005]. Основными причинами недостаточной эффективности предлагаемых методов лечения считают неизученность молекулярно-генетических аспектов заболевания ЯБ, ассоциированной с *H.pylori*, в том числе молекулярно-генетических основ восприимчивости и чувствительности к персистенции *H.pylori* у разных индивидов [Ando *et al.*, 2007], а также отсутствие учета региональных особенностей хеликобактерных инфекций [Абдулхаков, 2006].

Различия восприимчивости и чувствительности к персистенции *H.pylori* связывают с вариабельностью генотипов хеликобактера в отношении факторов вирулентности, а также полиморфизмом генов иммунного ответа у носителей инфекционных агентов. Предполагают, что развитие ЯБЖ и ЯБДК может быть ассоциировано с наличием у индивидов определенных генотипов хеликобактера (*cagA*, *iceA*, *babA* и *vacA*), а также вариантов полиморфных локусов генов ключевых иммуномедиаторов про- и противовоспалительных реакций – *IL-1* (*IL-1B-511C>T*, *IL-1B+3954C>T*, *IL-1RN(VNTR)*) и *IL-10* (*IL-10-1082G>A*) [Garcia-Gonzalez *et al.*, 2001, 2003; Rad *et al.*, 2003, 2004]. Предполагается, что носители определенных генотипов полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) могут колонизироваться специфичными в отношении факторов вирулентности штаммами *H.pylori*, а распределение генотипов *H.pylori* и полиморфных локусов генов цитокинов, а также их ассоциации у индивидов в разных регионах различаться [Garcia-Gonzalez *et al.*, 2003; Rad *et al.*, 2004]. В последнее время появились сообщения, что существенным фактором развития гастродуоденальной патологии может быть колонизация СОЖ микоплазмами, в частности, *Mycoplasma hyorhinis* [Huang *et al.*, 2001; Kwon *et al.*, 2004]. Однако

систематические исследования для проверки всех вышеуказанных предположений в разных регионах мира не проводились.

Цель данной работы - определить особенности генотипов *H.pylori* и полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки в г. Казани.

Основные задачи исследования:

1. Протестировать биоптаты больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки на наличие *Helicobacter pylori* и определить частоту встречаемости бактерий в исследуемых образцах.

2. Выполнить типирование штаммов *H.pylori* по генам факторов вирулентности (*cagA*, *iceA*, *babA* и аллелям *m1*, *m2*, *s1*, *s2* гена *vacA*) у больных язвенной болезнью и провести анализ распределения генотипов *H.pylori* в обследуемой группе.

3. Определить варианты полиморфных локусов генов *IL-1B* (*IL-1B-511C>T*, *IL-1B+3954C>T*, *IL-1RN(VNTR)*) и *IL-10* (*IL-10-1082G>A*) у больных язвенной болезнью, а также в контрольной группе и провести анализ распределения частоты их встречаемости в обследуемых группах.

4. Провести ассоциативный анализ генотипов *H.pylori* и полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) у больных язвенной болезнью.

5. Протестировать биоптаты больных язвенной болезнью на наличие *M.hyorhinitis*, определить частоту встречаемости сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфекции СОЖ и провести ассоциативный анализ распределения генотипов *H.pylori*, а также полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) в отношении хеликобактерно – микоплазменной инфекции в обследуемой группе.

6. Выполнить сравнительный анализ ультраструктуры эпителия СОЖ у больных ЯБЖ с разными генотипами *H.pylori* и полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) при наличии и отсутствии сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфекции.

7. Провести ассоциативный анализ морфометрических показателей язвенных дефектов и генотипов *H.pylori*, а также вариантов полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) у больных язвенной болезнью при наличии и отсутствии сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфекции.

Научная новизна. Впервые проведено исследование особенностей распределения генотипов штаммов *Helicobacter pylori*, определяющих вирулентность бактерий, и полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) в группе больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки (жители г. Казани) при наличии и отсутствии сочетанной сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфекции. Показано, что слизистая оболочка желудка *всех* больных ЯБ инфицирована *H.pylori* и установлено, что штаммы *H.pylori* с генотипами, определяющими высокую вирулентность хеликобактера, достоверно чаще встречаются в исследуемых образцах.

У 19% больных ЯБ обнаружено сочетанное (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфицирование слизистой желудка. Установлено, что хеликобактерно-микоплазменная инфекция достоверно чаще встречается у больных ЯБЖ и

ЯБДК с комбинацией генотипов *IL-1B-511*T/*T*, *IL-1B+3954*C/C*, *IL-1RN2/2*, *IL-10-1082A/G* ($p<0,05$).

Выявлены молекулярно-генетические маркеры предрасположенности к ЯБЖ и ЯБДК. Обнаружено, что аллель *IL-1B-511*C* и генотип *IL-1B-511*C/*C* повышают риск развития язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*, а аллель *IL-1B-511*T*, генотип *IL-1B-511*C/*T* – снижают вероятность формирования заболевания. Показано, что больные язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*, являющиеся носителями сочетания генотипов *IL-1B-511*T/*C*, *IL-1B+3954*C/*C*, *IL-1RN*1/*1*, *IL-10-1082*G/*G*, инфицированы преимущественно низковирулентными штаммами хеликобактера. Установлено, что возможность самопроизвольного рубцевания язвенных дефектов больных ЯБДК ассоциирована с генотипами *cagA**vacA**s1* штаммов *H.pylori*, а также *IL-1RN(VNTR)* индивидов.

Впервые показано, что особенности патологических изменений ультраструктуры СОЖ у больных ЯБ различаются в зависимости от генотипов хеликобактера, полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*), а также наличия сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinis*) инфекции.

Научно-практическая значимость. Результаты работы вносят вклад в представление о молекулярно-генетических аспектах язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*, и их региональных особенностях. Впервые выявлены генетические маркеры предрасположенности к заболеванию и его особенностям у индивидов в г. Казани.

Полученные данные могут быть использованы в научно-практических исследованиях механизмов формирования системы «паразит - хозяин» и связанной с ней гастродуоденальной патологии для разработки дифференцированных региональных программ, а также индивидуальных схем лечения и профилактики язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*. Результаты работы могут быть также использованы в курсах лекций по биохимии, микробиологии, молекулярной генетике, гастроэнтерологии и молекулярной медицине в ВУЗах.

Связь работы с научными программами и собственный вклад автора в исследование. Работа в течение 2001-2008 гг. проводилась в соответствии с планом научных исследований КИББ КазНЦ РАН по теме «Взаимодействие микоплазм с высшими организмами на молекулярно-генетическом уровне» (№ гос. рег. 0120.0 603845). Исследования поддержаны грантами **ФОНДа НИОКР РТ: 03-3.10-163** «Полиморфизм микроорганизмов, ассоциированных с заболеваниями желудочно-кишечного тракта в популяциях народов Республики Татарстан: особенности ультраструктуры и генетической вариабельности клинических изолятов *Helicobacter pylori* и микоплазм», 2001-2003 гг. и **ФОНДа НИОКР РТ: 03-3.10-361/ 2005** «Генетический полиморфизм в популяциях народов Республики Татарстан: вариабельность генов цитокинов у пациентов с гастродуоденальными и урогенитальными заболеваниями при персистенции хеликобактерий и микоплазм», 2002-2005 гг.

Научные положения диссертации базируются на результатах собственных исследований автора. Автор выражает благодарность к.б.н. Акберовой Н.И. (каф. биохимии Казанского государственного университета) за помощь в проведении статистического анализа полученных результатов; проф. Борхсениусу С.Н. (зав. лаб. структурной организации генома Института цитологии РАН, г.Санкт-Петербург) за предоставление образцов ДНК референтного штамма *M.hyorhinis* M20; к.б.н. Шаймардановой Г.Ф. (КИББ КазНЦ РАН, г.Казань) за проведение электронно-микроскопического исследования образцов СОЖ; к.м.н. Сайфутдинову И.М. и Давлиеву М.К. (МКДЦ, г.Казань) за предоставление биоптатов СОЖ, полученных в результате проведенной ими фиброгастроуденоскопии; а также к.б.н. Т.А.Акопиан (ФГУ НИИ физико-химической медицины Минздрава РФ, г.Москва) за определение нуклеотидных последовательностей ампликонов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Большинство больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки (жители г.Казани) является носителями высоковирулентных штаммов *H.pylori*.

2. Аллель *IL-1B-511*С* и генотип *IL-1B-511*С/*С* повышают риск развития язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*, а аллель *IL-1B-511*Т*, генотип *IL-1B-511*С/*Т* – снижают вероятность формирования заболевания.

3. Больные язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*, являющиеся носителями сочетания генотипов *IL-1B-511*Т/*С*, *IL-1B+3954*С/*С*, *IL-1RN*1/*1*, *IL-10-1082*G/*G*, инфицированы преимущественно низковирулентными штаммами хеликобактера.

4. Возможность самопроизвольного рубцевания язвенных дефектов больных ЯБДК ассоциирована с генотипами *cagA**vacA**s1* штаммов *H.pylori*, а также *IL-1RN(VNTR)* индивидов.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы были представлены на XVI Международном симпозиуме Европейской группы по изучению *Helicobacter pylori* (EHSG) (Швеция, 2003), VI Международном симпозиуме «Диагностика и лечение заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori*» (Екатеринбург, 2003), на 8-й Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых (Пущино, 2004), научно-практической конференции студентов и аспирантов "Молодежь ВУЗов Казани в решении актуальных проблем города" (Казань, 2004), VIII Международном Евроазиатском конгрессе гастроэнтерологов (Тбилиси, 2005), на XXI-ой Российской конференции по электронной микроскопии (Черноголовка, 2006), на XX-ом Международном симпозиуме Европейской группы по изучению *Helicobacter pylori* (EHSG) (Стамбул, 2007), Всероссийской научно-практической конференции "Молодые ученые в медицине" (Казань, 2004, 2007), Итоговой научной конференции КИББ КНЦ РАН (Казань, 2008), XXI Международном симпозиуме Европейской группы по изучению *Helicobacter pylori* (EHSG) (Рига, 2008).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 17 научных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 167 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, заключения, выводов, списка использованной литературы, а также приложения. В работе представлено 23 таблицы и 33 рисунка. Список цитируемой литературы содержит 261 источник, в том числе 32 – в отечественных изданиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

127 больных, пациентов 1-й городской клинической больницы и Межрегионального клинико-диагностического центра (МКДЦ) г. Казани, в возрасте от 20 до 78 лет (средний возраст $42,3 \pm 12,9$, соотношение мужчины/женщины=66/57) составили группу обследования. Диагноз (язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки) устанавливался клиницистом на основании результатов гастродуоденоскопии, в процессе которой производился забор биоптата слизистой оболочки желудка. У больных было получено согласие на участие в исследовании. Биоптаты помещали в стерильные пробирки объемом 1,5 мл и хранили при -12°C .

Контрольная группа была сформирована из жителей г.Казани, соответствующих выборке больных по возрасту и полу, отобранных по данным анамнеза (отсутствие язвенной патологии у них и их ближайших родственников). Общая численность группы составила 123 человека. Обе группы были смешанными по этнической принадлежности.

Экстракция и очистка ДНК из биоптатов осуществлялась с помощью коммерческого набора "ХЕЛИКОПОЛ" (НПФ "Литех", Москва), согласно инструкции изготовителя. Экстракция и очистка ДНК из крови осуществлялась с помощью коммерческого набора реагентов для сорбентного выделения ДНК (НПФ "Литех", Москва), согласно инструкции изготовителя.

Выявление *H.pylori* проводили посредством ПЦР с помощью коммерческого набора «Хеликопол II» (НПФ "Литех", Москва) с использованием специфичных праймеров на нуклеотидную последовательность гена *ureC*, согласно инструкции изготовителя. Амплификацию проводили в приборе «Терцик» (ДНК-технология, Россия). Результаты документировали с помощью видеосистемы для регистрации гелей "DNA Analyzer" (НПФ "ЛИТЕХ", Москва). Генотипирование штаммов *H.pylori* в отношении нуклеотидных последовательностей *cagA*, *vacA*, *iceA* и *babA2* осуществляли с помощью соответствующих наборов реагентов НПФ "ЛИТЕХ" (Москва), согласно инструкции изготовителя.

Выявление *M.hyorhinis* осуществляли с помощью ПЦР с использованием видоспецифичных праймеров по Dussurget *et al.* [1994] и Timenetsky *et al.* [2000]. В качестве положительного контроля использовали ДНК референтного штамма *M.hyorhinis* М20, любезно предоставленного проф. Борхсениусом С.Н. (Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург).

Определение нуклеотидных последовательностей ампликонов осуществляли с помощью автоматического секвенатора ABI 3130 (Applied

Biosystems, США) на базе лаборатории протеомного анализа ФГУ НИИ физико-химической медицины Минздрава РФ (г. Москва). Для анализа данных использовали пакет программ Informax Vector NTI Suite 9.

Определение генотипов полиморфных локусов генов *IL-1* и *IL-10* осуществляли методом ПЦР по El-Omar *et al.* [2000], Garcia-Gonzalez *et al.* [2003] и Karhukorpi [2005]. Рестрикцию ампликонов *IL-1B-511* и *IL-1B+3954* проводили по Garcia-Gonzalez *et al.* [2003], с использованием специфичных эндонуклеаз *AvaI* и *TaqI*, соответственно.

Электронно-микроскопическое исследование образцов слизистой оболочки желудка больных язвенной болезнью проводили на электронном микроскопе GM 1200 (Япония). Образцы слизистой оболочки из антрального отдела желудка больных язвенной болезнью фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида, приготовленного на фосфатном буфере 0,1М, pH 7,2. Ультратонкие срезы получали на микротоме LKB–III (Швеция), монтировали на никелевые сеточки, окрашивали водным раствором уранилацетата и контрастировали цитратом свинца.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программного обеспечения MS Excel (Microsoft), программы MedCalc (v. 8.1.1.0). При сравнении частот генотипов и аллелей в группе инфицированных *Helicobacter pylori* больных язвенной болезнью и группе контроля использовался критерий χ^2 (p) с поправкой Йейтса на непрерывность. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов (OR), а также рассчитывали его 95%-ный доверительный интервал (95% CI) [Бабич и др., 2005].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Частота встречаемости *Helicobacter pylori* и генотипы штаммов хеликобактера у больных язвенной болезнью

В результате тестирования биоптатов больных язвенной болезнью с помощью ПЦР было установлено, что СОЖ всех обследованных пациентов инфицирована *H.pylori*.

Эпидемиологические данные, полученные в разных странах, свидетельствуют, что 100% ЯБДК и более 80% ЯБЖ связаны с персистенцией в желудке *H.pylori* [Исаков, 2006]. Отсутствие случаев ЯБЖ без ассоциации с хеликобактером в нашей работе может быть связано с особенностями выборки и/или региональными особенностями.

У больных ЯБ (ЯБЖ и ЯБДК) достоверно чаще ($p < 0,05$) встречаются штаммы *H.pylori* с генотипами *cagA*⁺, *vacAs1*⁺, *vacAm2*⁺, *iceA1*⁺ (65%, 76,4%, 78,9%, и 60%, соответственно) (рис. 1). Из 28 возможных комбинаций генотипов штаммов *H.pylori* в отношении *vacA*, *cagA*, *iceA* и *babA2* в исследованных образцах было обнаружено 10 и установлено, что в группе больных ЯБДК и ЯБЖ преобладают штаммы *H.pylori* с комбинациями генотипов *vacAs1/m2*⁺ *iceA1*⁺ *cagA*⁺ и *vacAs1/m2*⁺ *iceA1*⁺ *cagA*⁺ *babA2*⁺, включающими все исследуемые гены вирулентности *H.pylori*. При этом в группе больных ЯБ (ЯБЖ и ЯБДК)

достоверно чаще встречаются штаммы *H.pylori* с комбинацией генотипов $cagA^+ vacAsI^+$ ($p < 0,05$), определяющей высокую вирулентность хеликобактера (рис. 2).

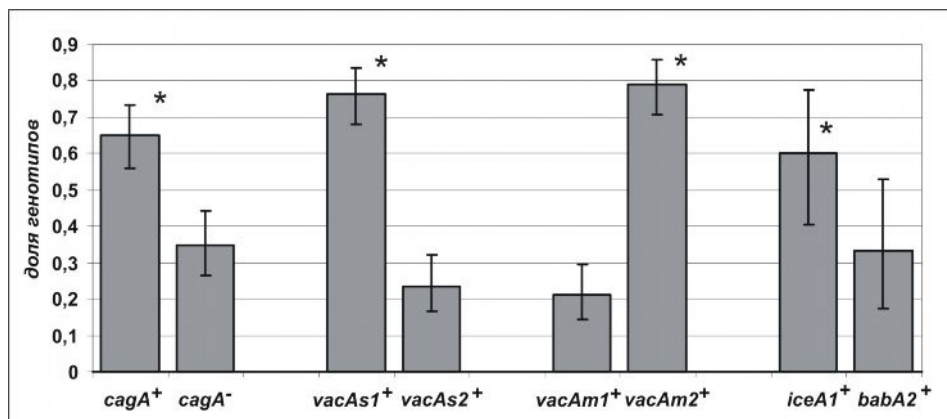


Рис.1. Распределение генов вирулентности у штаммов *H.pylori* больных язвенной болезнью (ЯБЖ и ЯБДК). * - $p < 0,05$

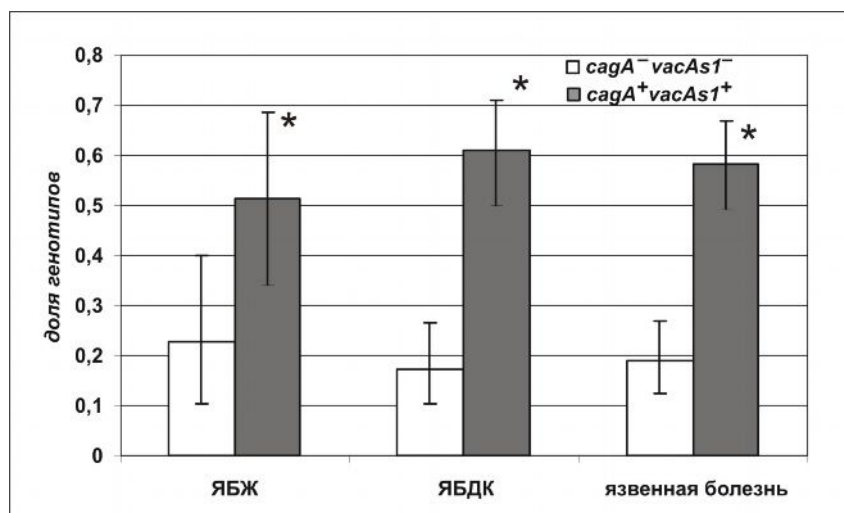


Рис.2. Распределение генотипов $cagA^+ vacAs1^+$ и $cagA^- vacAs1^-$ у штаммов *H.pylori* больных язвенной болезнью (ЯБЖ и ЯБДК). * - $p < 0,05$

Таким образом, в обследуемой нами группе больных (ЯБЖ и ЯБДК) преобладают штаммы *H.pylori* с генотипами, определяющими высокую вирулентность хеликобактера. Выявленная нами встречаемость высоковирулентных штаммов *H.pylori* ($cagA^+ vacAs1^+$) – 58,3% – в группе больных ЯБЖ и ЯБДК г. Казани несколько отличается от таковых в других регионах мира [Sillakivi *et al.*, 2001; Andreson, 2002; Costa Lopes *et al.*, 2006], что согласуется с предположением о наличии региональных особенностей распространения штаммов хеликобактера [Yamaoka *et al.*, 1999].

2. Особенности генотипов полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) у больных язвенной болезнью и представителей контрольной группы

В результате анализа распределения полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) было обнаружено, что в группе здоровых индивидов достоверно чаще встречается аллель *IL-1B-511*T*, тогда как в группе больных язвенной болезнью – аллель **C* полиморфного локуса *IL-1B-511* ($\chi^2=13,54$, $p<0,001$). Генотип *IL-1B-511*C/*C* достоверно чаще обнаруживается у больных язвенной болезнью ($\chi^2=19,85$, $p<0,001$); генотипы *IL-1B-511*C/*T* и *IL-1RN*1/*2* достоверно реже встречаются в группе больных язвенной болезнью по сравнению с контролем ($\chi^2=8,42$, $p=0,004$; $\chi^2=6,43$, $p=0,011$, соответственно) (рис. 3 и 4).

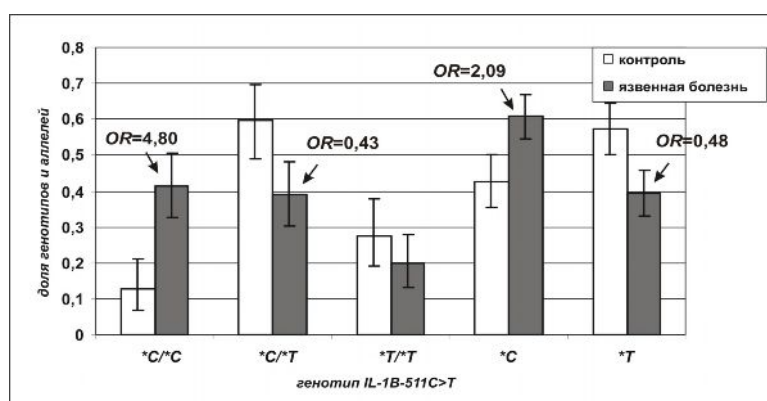


Рис.3. Распределение аллелей и генотипов полиморфного локуса гена *IL-1B* (*-511C>T*) в опытной и контрольной группах

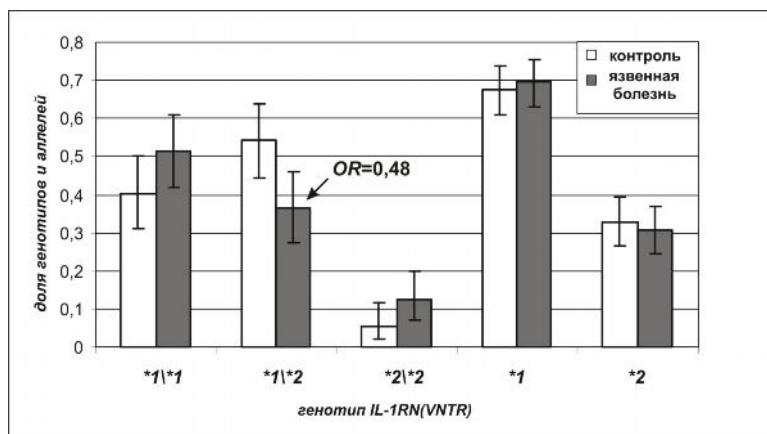


Рис.4. Распределение аллелей и генотипов *IL-1RN* (VNTR) в опытной и контрольной группах

Результаты статистического анализа свидетельствуют, что аллель *IL-1B-511*C* и генотип *IL-1B-511*C/*C* ассоциированы с повышенным ($OR=2,09$, 95%CI 1,42-3,06; $OR=4,80$, 95%CI 2,38-9,69, соответственно), а аллель *IL-1B-511*T* и генотипы *IL-1B-511*T/*C*, *IL-1RN*1/*2* - с пониженным риском возникновения ЯБ ($OR=0,48$, 95%CI 0,33-0,70; $OR=0,43$, 95%CI 0,25-0,75, $OR=0,48$, 95%CI 0,28-0,83, соответственно) (рис. 3 и 4). Однако при разделении выборки выявленные закономерности сохраняются полностью только для

группы больных ЯБДК (рис. 5), а для группы больных ЯБЖ ассоциация генотипа *IL-1RN**1/*2 не достигает статистической значимости ($OR=0,52$, 95%CI 0,24-1,15) (рис. 6). Генотип *IL-1B*-511*С/*С достоверно чаще встречается в группе больных ЯБЖ ($\chi^2=13,64$, $p<0,001$, $OR=5,47$, 95%CI 2,24-13,36), а также в группе больных ЯБДК ($\chi^2=16,3$, $p<0,001$, $OR=4,56$, 95%CI 2,18-9,56), чем в контрольной группе (рис. 5А, 6А). Генотип *IL-1B*-511*С/*Т достоверно реже встречается в группе больных ЯБЖ и в группе больных ЯБДК, чем в контроле ($\chi^2=6,17$, $\chi^2=5,55$, $OR=0,34$, 95%CI 0,15-0,76; $OR=0,47$, 95%CI 0,26-0,85, соответственно, для всех $p<0,05$). Комбинация аллелей 1 и 2 гена *IL-1RN* достоверно реже встречается в группе больных ЯБДК, чем в контрольной группе ($\chi^2=5,7$, $p=0,017$, $OR=0,47$, 95%CI 0,26-0,84) (рис. 5Б).

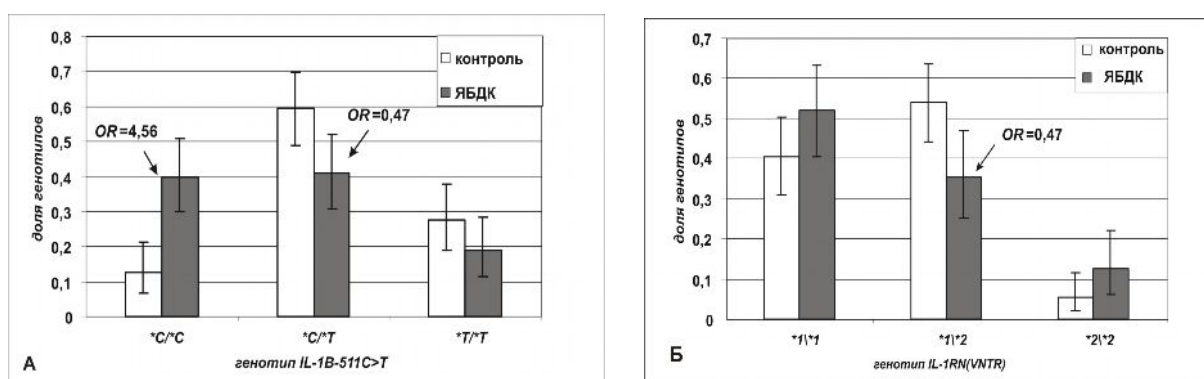


Рис.5. Распределение генотипов полиморфных локусов генов *IL-1B* (-511C>T) – А, и *IL-1RN* (VNTR) – Б, в опытной (ЯБДК) и контрольной группах

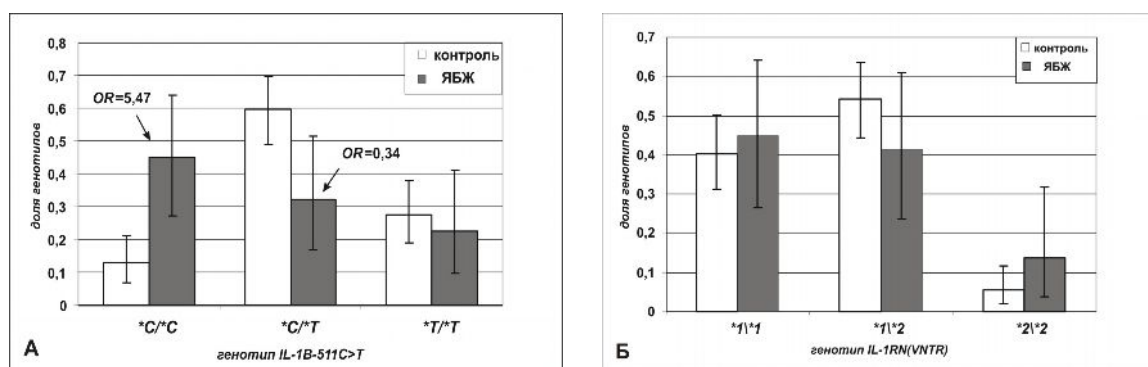


Рис.6. Распределение генотипов полиморфных локусов генов *IL-1B* (-511C>T) – А, и *IL-1RN* (VNTR) – Б, в опытной (ЯБЖ) и контрольной группах

В отношении версий генотипов *IL-1B*+3954C>T и *IL-10*-1082G>A у больных ЯБ в целом и при разделении выборки на подгруппы (ЯБЖ и ЯБДК) достоверные различия не обнаружены.

Генотипически опосредованные реакции в отношении IL-1 и IL-10, обуславливающие деструктивные процессы, зависят от сочетания у индивидов генотипов полиморфных локусов соответствующих генов [Rad et al., 2003, 2004]. В этой связи были определены частоты встречаемости разных комбинаций генотипов *IL-1B*-511C>T, *IL-1B*+3954C>T, *IL-1RN* (VNTR) и *IL-10*-

1082G>A у больных язвенной болезнью, ассоциированной с *H.pylori*, а также у представителей контрольной группы.

В группе больных ЯБ по сравнению с контролем достоверно чаще встречается комбинация генотипов *IL-1B-511**C/*C, *IL-1B+3954**C/*C, *IL-1RN**1/*1, *IL-10-1082**A/*A ($p=0,033$, $OR=11,40$, 95%CI 0,63-205,60), которая, по данным исследователей [Turner, 1997; Hwang *et al.*, 2002; Rad, 2004], определяет повышенную секрецию провоспалительного цитокина, и достоверно реже – комбинация *IL-1B-511**C/*T, *IL-1B+3954**C/*C, *IL-1RN**1/*2, *IL-10-1082**A/*G ($p=0,038$, $OR=0,25$, 95%CI 0,07-0,96), которая определяет повышенную секрецию про- и противовоспалительного цитокинов (рис. 7). При разделении выборки на группы ЯБЖ и ЯБДК выявленные закономерности сохраняются только для группы ЯБДК – в отношении комбинации *IL-1B-511**C/*C, *IL-1B+3954**C/*C, *IL-1RN**1/*1, *IL-10-1082**A/*A ($p=0,019$), однако ассоциация не достигает статистической значимости ($OR=13,82$, 95%CI 0,75-254,60).

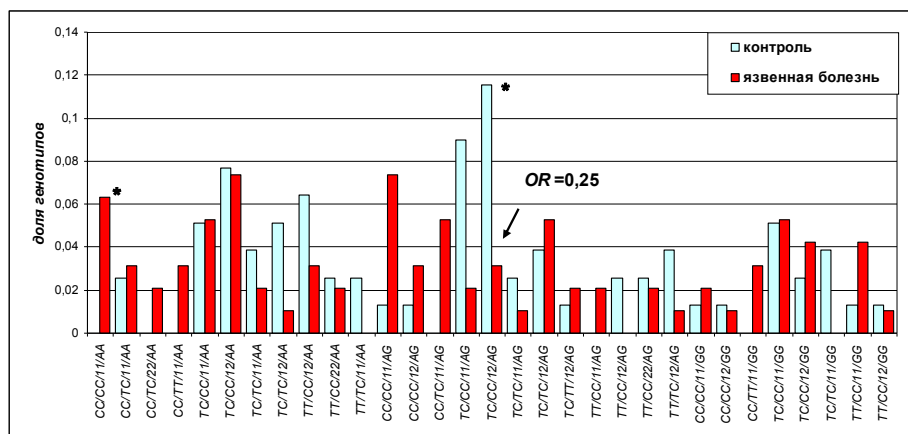


Рис.7. Распределение комбинаций генотипов полиморфных локусов генов цитокинов *IL-1* (-511C>T, +3954C>T, *IL-1RN*(VNTR)) и *IL-10* (-1082G>A) в опытной и контрольной группах. * - $p<0,05$

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что у носителей аллели *IL-1B-511**C и генотипа *IL-1B-511**C/*C повышен риск развития ЯБ, ассоциированной с *H.pylori*, а у носителей аллели *IL-1B-511**T и генотипа *IL-1B-511**C/*T, напротив, снижена вероятность формирования заболевания; у носителей генотипа *IL-1RN**1/*2 понижена вероятность развития язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*.

Результаты наших исследований в значительной мере совпадают с результатами аналогичных исследований для Центрально-Черноземного региона России [Иванов и др., 2006], но расходятся с таковыми для других регионов мира [Garcia-Gonzalez, 2001; Furuta *et al.*, 2002]. Это согласуется с предположением о региональных особенностях связи полиморфных вариантов генов *IL-1* и *IL-10* с язвенной болезнью (ЯБЖ и ЯБДК), ассоциированной с хеликобактерной инфекцией [Furuta *et al.*, 2002; Garcia-Gonzalez *et al.*, 2001, 2003]. Гетерогенность группы ЯБ (ЯБЖ и ЯБДК) по полиморфным вариантам *IL-1* и *IL-10* может свидетельствовать об участии также других (помимо

исследованных) факторов в развитии соответствующей ГДП [Rad *et al.*, 2003, 2004; Чернявский и др., 2005].

3. Ассоциация генотипов *H.pylori* с полиморфными вариантами генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) у больных язвенной болезнью

Клиническая картина инфекции определяется не только особенностями инфекционных агентов, но и иммунореактивности инфицированных индивидов [Ройт, 2000]. Бактериальные факторы вирулентности – важные детерминанты гистопатологических изменений, а гены *IL-1* и *IL-10* критичны для потенцирования патогенных эффектов инфекционных агентов. Предполагается, что специфичные ассоциации генотипов *H.pylori* и полиморфных локусов генов цитокинов носителей инфекционных агентов могут определять разные формы ГДП [Figueiredo *et al.*, 2002; Rad *et al.*, 2003, 2004].

В результате наших исследований было обнаружено, что у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*, являющихся носителями комбинации генотипов *IL-1B-511*T/*C*, *IL-1B+3954*C/*C*, *IL-1RN*1/*1*, *IL-10-1082*G/*G*, обуславливающих повышенную секрецию про- и противовоспалительного цитокинов [Turner, 1997; Hwang, *et al.*, 2002; Rad *et al.*, 2004], достоверно реже встречаются высоковирулентные штаммы *H.pylori* (*cagA*⁺ *vacAsI*⁺) ($p=0,008$, $OR=0,05$, $95\%CI\ 0,005-0,53$) (рис.8).

Вопрос ассоциации генотипов *H.pylori* и полиморфных вариантов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) у больных с ГДП мало изучен. В литературе имеются единичные сведения о проведении подобных исследований, – в основном, для больных с кишечной метаплазией [Zambon *et al.*, 2002; Rad *et al.*, 2004; Leung *et al.*, 2006]. Ассоциация генотипов *H.pylori* и комбинации полиморфных локусов *IL-1* и *IL-10* в случае ЯБЖ и ЯБДК впервые была исследована в нашей работе. Молекулярные механизмы синергизма соответствующих штаммов *H.pylori* и полиморфных вариантов генов цитокинов еще предстоит выяснить.

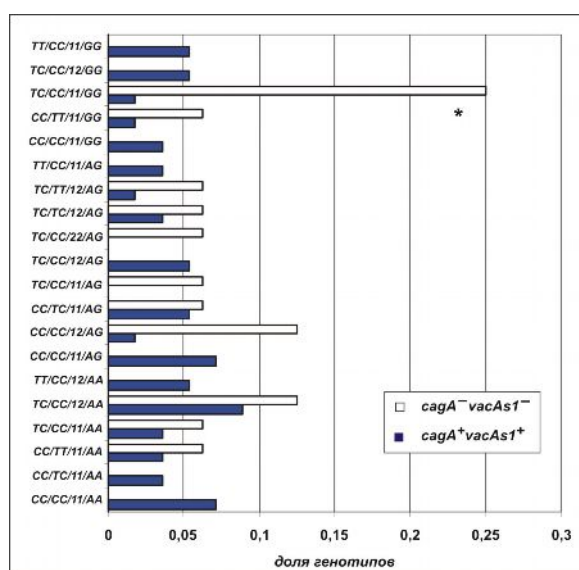


Рис.8. Распределение штаммов *H.pylori* с генотипами *cagA*⁺*vacAsI*⁺ и *cagA*⁻*vacAsI*⁻ в группе больных язвенной болезнью при носительстве различных комбинаций генотипов полиморфных локусов генов *IL-1* и *IL-10*. * - $p<0,05$

4. Частота встречаемости *Mycoplasma hyorhinis* в биоптатах больных язвенной болезнью и особенности генотипов *H.pylori* и полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) в случае сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinis*) инфекции

В результате тестирования 123 биоптатов слизистой оболочки желудка больных язвенной болезнью на наличие *M.hyorhinis* у 19% больных была обнаружена сочетанная хеликобактерно-микоплазменная инфекция.

В литературе имеются сведения о проведении аналогичных исследований только для жителей Китая [Huang *et al.*, 2001]. Выявленная нами встречаемость *M.hyorhinis* (19%) у больных ЯБЖ и ЯБДК г.Казани отличается от таковой в исследованной авторами группе, где *M.hyorhinis* обнаруживалась у 30% больных язвенной болезнью. Расхождение данных может быть связано с региональными особенностями.

В результате анализа распределения комбинаций генотипов *IL-1* и *IL-10* в соответствующих группах было установлено, что СОЖ носителей генотипов *IL-1B-511*T/*T*, *IL-1B+3954*C/*C*, *IL-1RN*2/*2*, *IL-10-1082*A/*G*, определяющих, по данным литературы [Turner, 1997; Hwang *et al.*, 2002; Rad *et al.*, 2004], повышенный уровень секреции про- и противовоспалительного цитокинов, достоверно чаще инфицирована *H.pylori* в сочетании с *M.hyorhinis* ($p=0,039$) (рис. 9). Однако ассоциация данной комбинации генотипов с инфицированием *H.pylori* и *M.hyorhinis* не достигает достоверной величины ($OR=21,77$; 95%CI 0,99-476,7). Достоверные различия относительно ассоциации генотипов *H.pylori*, а также отдельных аллелей и генотипов полиморфных локусов *IL-1B-511C>T*, *IL-1B+3954C>T*, *IL-1RN (VNTR)*, *IL-10-1082A>G* и инфицирования *M.hyorhinis* в наших исследованиях тоже не выявлены.

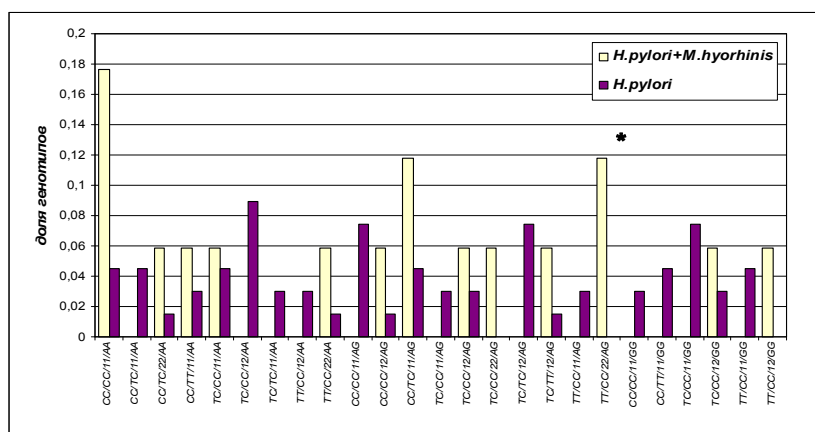


Рис.9. Распределение комбинаций генотипов полиморфных локусов генов цитокинов *IL-1* (*-511C>T*, *+3954C>T*, *IL-1RN(VNTR)*) и *IL-10* (*-1082G>A*) в группе больных язвенной болезнью при сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinis*) инфекции. * - $p < 0,05$

Полученные данные позволяют заключить, что инфицирование СОЖ *M.hyorhinis* может быть у носителей разных генотипов *IL-1* и *IL-10*, инфицированных генотипически различными штаммами *H.pylori* [Борхсениус, 2001]. Это может быть связано с уникальными возможностями микоплазм

преодолевать иммунный контроль независимо от особенностей иммунореактивности хозяина, модулировать иммунный ответ и способствовать развитию сочетанных инфекций [Борхсениус и др., 2002; Razin *et al.*, 2006].

5. Особенности ультраструктуры эпителия слизистой желудка у больных язвенной болезнью желудка с разными генотипами *H.pylori* и полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) при наличии и отсутствии сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфекции

Для сравнительного анализа ультраструктуры эпителия СОЖ были отобраны биоптаты больных ЯБЖ с комбинациями генотипов *IL-1* и *IL-10*, определяющими, по данным литературы [Turner, 1997; Hwang *et al.*, 2002; Rad *et al.*, 2004], различный характер секреции про- и противовоспалительных цитокинов, и инфицированных штаммами *H.pylori* с генотипами, определяющими высокую (*cagA*⁺ *vacAsI*⁺) или низкую вирулентность (*cagA*⁻ *vacAsI*⁻) хеликобактера. В анализ были также включены образцы от больных с сочетанной (*H.pylori* + *M.hyorhinitis*) инфекцией.

В результате анализа трансмиссивных микрографий во всех исследованных образцах были выявлены клетки хеликобактера – в толще слизи (рис. 10А), а также в непосредственном контакте с эпителиоцитами (рис. 10Б). В образцах, инфицированных (по данным ПЦР) *M.hyorhinitis*, клетки микоплазмы обнаруживались как на поверхности, так и внутри эпителиоцитов (рис. 10 В, Г).

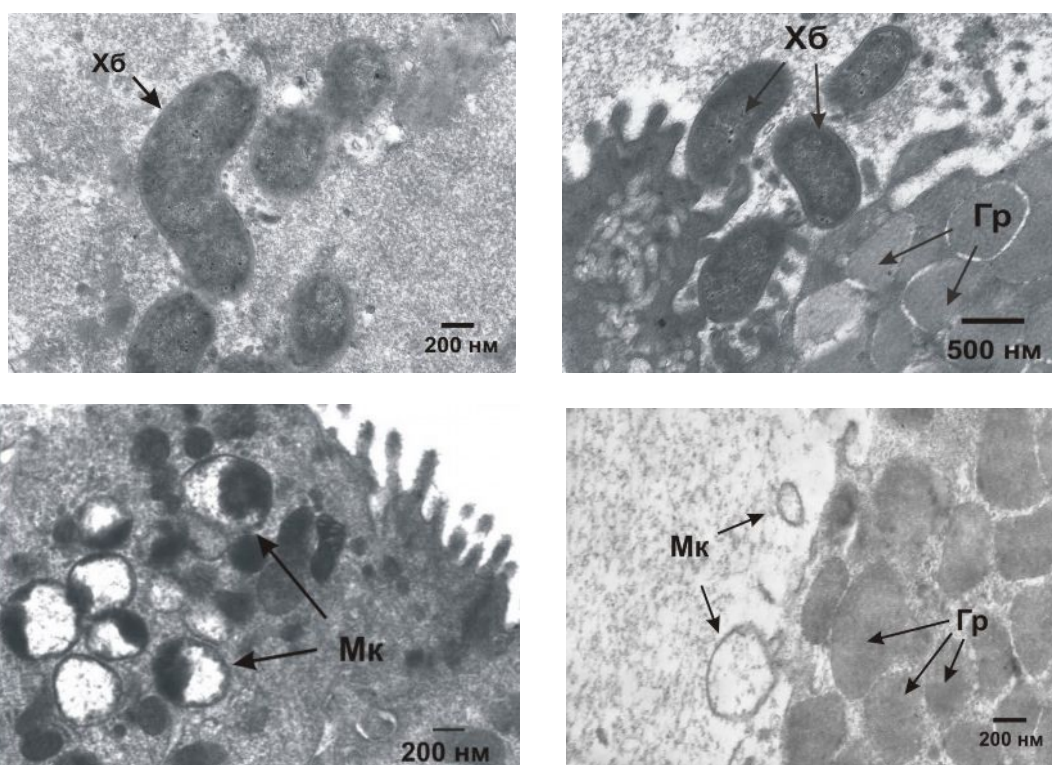


Рис.10. Трансмиссивные микрографии эпителия слизистой желудка больных ЯБЖ в случае сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфекции. А – клетки хеликобактера в толще слизи желудка, Б – клетки хеликобактера в непосредственном контакте с эпителиоцитами, В – клетки микоплазм внутри эпителиоцита, Г – клетки микоплазм на поверхности муцинпродуцирующей клетки слизистой желудка, Хб – хеликобактер, Мк – микоплазма, Гр – гранулы муцина

Сравнительный анализ трансмиссивных микрографий проводился в отношении патологических изменений СОЖ, характерных для ЯБ, ассоциированной с *H.pylori* (разрушенность эпителиального пласта, отсутствие плотных клеточных контактов и десмосом, отсутствие микроворсинок на поверхности эпителиоцитов, отсутствие гранул муцина, разрушение митохондрий, разбухшая эндоплазматическая сеть, наличие вакуолей) [Goodwin *et al.*, 1986; Hessey *et al.*, 1990].

Наиболее выраженные патологические изменения эпителия наблюдались в образцах больных с генотипами *IL-1* и *IL-10*, определяющими нормальную секрецию про- и противовоспалительного цитокинов, при инфицировании высоковирулентными штаммами *H.pylori* (*cagA*⁺ *vacAsI*⁺).

Умеренно выраженными оказались изменения эпителиального пласта в образцах больных с генотипами, характерными для повышенной секреции провоспалительного и нормальной секреции противовоспалительного цитокинов, а также повышенной секреции противовоспалительного и нормальной секреции провоспалительного цитокинов.

Наименее выраженные патологические изменения эпителия наблюдались в образцах больных, являющихся носителями генотипов интерлейкинов, определяющих повышенную секрецию про- и противовоспалительного цитокинов, при инфицировании высоковирулентными штаммами *H.pylori* (*cagA*⁺ *vacAsI*⁺). Однако в присутствии *M.hyorhinitis* при соответствующих генотипах цитокинов и *H.pylori* деструктивные изменения оказывались весьма выраженными.

Выявленные особенности ультраструктуры эпителия могут быть связаны с вариантами генетически опосредованной иммунореактивности организма-хозяина, индуцируемой соответствующими штаммами *H.pylori*. При этом в случае сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфекции наблюдаемые изменения ультраструктуры могут быть обусловлены уникальной возможностью микоплазм ингибировать иммунореактивность хозяина и, таким образом, способствовать проявлению патогенности инфекционных агентов на фоне пониженной иммунореактивности организма [Прозоровский и др., 1995; Борхсениус и др., 2002; Razin *et al.*, 2006]. В этой связи больные ЯБ с соответствующими ассоциациями генотипов хеликобактера и полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) при сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфекции, вероятно, требуют особого внимания.

Таким образом, результаты, полученные в нашей работе, позволяют заключить, что характер патологических изменений ультраструктуры в слизистой желудка при язвенной патологии может быть связан с генотипами *H.pylori*, а также полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) и наличием сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфекции. Молекулярно-генетические механизмы этих явлений еще предстоит определить.

6. Особенности морфометрических показателей язвенных дефектов у больных с различными генотипами полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) и штаммов *H.pylori*

В результате наших исследований было обнаружено, что больные ЯБ с двойными острыми язвами достоверно чаще инфицированы штаммами *H.pylori*, имеющими ген вирулентности *vacAsI* ($p=0,005$, $OR=24,90$, $95\%CI$ 1,40-442,80), определяющий повышенную цитолитическую активность *H.pylori* [Atherton *et al.*, 1995].

В результате анализа распределения комбинации генотипов, определяющих высокую или низкую вирулентность штаммов *H.pylori*, было обнаружено, что в группе больных ЯБ, инфицированных низковирулентными штаммами *H.pylori* (*cagA⁻vacAsI⁻*), достоверно чаще наблюдалось самопроизвольное рубцевание язвенных дефектов ($\chi^2=13,12$, $p<0,001$), чем у инфицированных высоковирулентными штаммами (*cagA⁺vacAsI⁺*) ($\chi^2=5,26$, $p<0,022$). У носителей штаммов *H.pylori* с генотипами *cagA⁻vacAsI⁻* вероятность спонтанного рубцевания язвенных дефектов выше ($OR=8,38$, $95\%CI$ 2,53-27,68), чем у носителей высоковирулентных штаммов с генотипами *cagA⁺vacAsI⁺* ($OR=0,37$, $95\%CI$ 0,16-0,81).

При разделении выборки на больных ЯБЖ ($n=33$) и ЯБДК ($n=80$) закономерности сохраняются только для группы больных ЯБДК. Результаты статистического анализа позволяют заключить, что вероятность самопроизвольного рубцевания у больных ЯБДК при инфицировании СОЖ низковирулентными штаммами *H.pylori* (*cagA⁻vacAsI⁻*) выше, чем при инфицировании высоковирулентными штаммами хеликобактера (*cagA⁺vacAsI⁺*) ($p=0,001$, $OR=18,75$, $95\%CI$ 2,26-155,35; $p=0,017$, $OR=0,27$, $95\%CI$ 0,10-0,74, соответственно) (рис. 11).

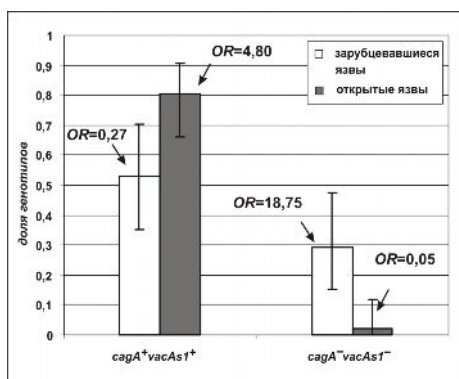


Рис.11. Распределение штаммов *H.pylori* с генотипами *cagA⁺vacAsI⁺* и *cagA⁻vacAsI⁻* у больных ЯБДК с зарубцевавшимися и открытыми язвами

Результаты анализа морфометрических показателей язвенных дефектов и генотипов полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) на возможность ассоциации свидетельствуют, что у носителей генотипа *IL-1RN*1/*1* достоверно чаще наблюдается самопроизвольное рубцевание язвенных дефектов ($p=0,045$, $OR=2,48$, $95\%CI$ 1,10-5,60), чем у носителей генотипа *IL-1RN*2/*2* ($p=0,029$, $OR=0,12$, $95\%CI$ 0,01-0,96).

При разделении выборки на больных ЯБЖ ($n=34$) и ЯБДК ($n=87$) выявленные закономерности сохраняются только для больных ЯБДК (рис. 12).

Вероятность самопроизвольного рубцевания язвенных дефектов у больных ЯБДК с генотипом *IL-1RN*1/*1*, определяющего нормальный уровень секреции провоспалительного цитокина (IL-1B) [Turner, 1997], выше, чем у носителей генотипа *IL-1RN*2/*2*, определяющего высокий уровень секреции провоспалительного цитокина (IL-1B) ($p=0,015$, $OR=3,69$, 95%CI 1,39-9,81; $p=0,004$, $OR=0,05$, 95%CI 0,003-0,90, соответственно) (рис. 12).

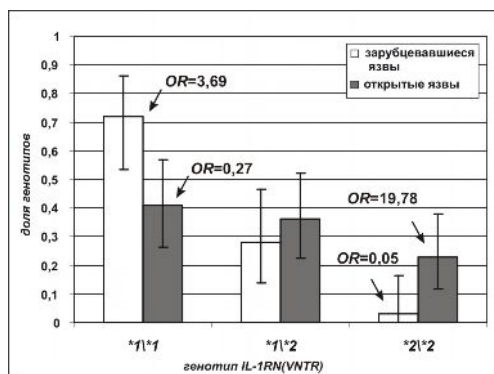


Рис.12. Распределение генотипов *IL-1RN(VNTR)* больных ЯБДК с зарубцевавшимися и открытыми язвами

Достоверные различия в отношении полиморфных локусов *IL-1B-511C>T*, *IL-1B+3954C>T* и *IL-10-1082G>A*, комбинаций полиморфных вариантов генов *IL-1* и *IL-10*, а также наличия или отсутствия сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфекции у больных язвенной болезнью с открытыми и зарубцевавшимися язвенными дефектами в целом и при разделении выборки на подгруппы (ЯБЖ и ЯБДК) не выявлены. Достоверные различия в отношении размеров язвенных дефектов у больных с различными генотипами полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*), а также наличия или отсутствия сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinitis*) инфекции в целом и при разделении выборки на подгруппы (ЯБЖ и ЯБДК) тоже не обнаружены.

Полученные нами данные свидетельствуют, что возможность самопроизвольного рубцевания язвенных дефектов больных ЯБДК ассоциирована с генотипами *cagA vacAs1* штаммов *H.pylori*, а также *IL-1RN(VNTR)* индивидов. В этой связи значительный интерес представляют особенности ассоциаций морфометрических показателей язвенных дефектов с генотипами *H.pylori* и полиморфных локусов генов цитокинов в других регионах мира. Однако сведения о проведении соответствующих исследований в литературе отсутствуют.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большой интерес к *Helicobacter pylori* сегодня обусловлен, с одной стороны, уникальностью биологии этой бактерии, а с другой – диктуется практической необходимостью. Колонизация слизистой оболочки желудка *H.pylori* может быть причиной развития хронического гастрита, пептической язвы и В-лимфомы. Изучение вирулентных свойств *H.pylori* как основного этиопатогенного фактора ЯБЖ и ЯБДК, эпидемиологии хеликобактериоза и

разработка способов контроля инфекции *H.pylori* являются важнейшими задачами современной медицины [Исаков, Домарадский, 2003].

Большой объем экспериментальных данных и клинических наблюдений, в том числе успешная реализация геномных проектов в отношении штаммов *H.pylori*, значительно расширили представления о биологии и патогенности этой бактерии. Однако молекулярные основы различия восприимчивости и чувствительности к персистенции *H.pylori* у разных индивидов пока недостаточно изучены.

Предполагают, что вариабельность генотипов хеликобактера в отношении факторов вирулентности, а также полиморфизм генов иммунного ответа и особенности микробиоценозов индивидов могут в значительной мере обуславливать различия клинических последствий инфицирования СОЖ *H.pylori*. Однако данные о систематических исследованиях указанных предположений в научной литературе отсутствуют.

Известно, что генетический полиморфизм *IL-1* (*IL-1B-511C>T*, *IL-1B+3954C>T*, *IL-1RN(VNTR)*) и *IL-10* (*IL-10-1082G>A*), обусловленный единичными нуклеотидными заменами и/или изменениями числа копий повторяющихся последовательностей в промоторной и кодирующей зоне, может обуславливать различный уровень экспрессии генов интерлейкинов, и, соответственно, характер иммунного ответа. В этой связи разные варианты полиморфных локусов *IL-1* и *IL-10* могут по-разному влиять на баланс про- и противовоспалительной реактивности, определяющей восприимчивость и чувствительность к персистенции бактерий.

Нами впервые проведено исследование особенностей распределения генотипов штаммов *Helicobacter pylori*, определяющих вирулентность бактерий, и полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) носителей хеликобактера в группе больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки (жители г. Казани) при наличии и отсутствии сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhins*) инфекции; выявлены молекулярно-генетические маркеры риска развития ЯБ, ассоциированной с *H.pylori* и показано, что возможность самопроизвольного рубцевания ассоциирована с генотипами *H.pylori*, а также полиморфных локусов генов цитокинов. В нашей работе впервые были исследованы ультраструктурные особенности СОЖ больных ЯБЖ с разными генотипами *H.pylori* и полиморфных локусов генов *IL-1* и *IL-10* при наличии и отсутствии сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhins*) инфекции и показано, что характер изменений эпителия СОЖ различается у индивидов в зависимости от генотипов хеликобактера, генов цитокинов, а также инфицируемости микоплазмой. Учитывая результаты наших исследований ультраструктуры СОЖ у больных ЯБЖ, пациенты с «критичной» ассоциацией генотипов *H.pylori* и полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) при инфицировании *M. hyorhins*, вероятно, требуют особого внимания. Эффект сочетанных с микоплазмами инфекций описан в ряде работ, но молекулярные основы феномена сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhins*) при язвенной болезни еще предстоит выяснить.

Результаты, полученные в нашей работе, подтверждают предположения, что встречаемость *H.pylori* и *M.hyorhinae*, а также генотипов хеликобактера и полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) у больных ЯБ в разных регионах имеют особенности. Полученные нами данные могут быть использованы для определения индивидуальных и региональных особенностей ЯБЖ и ЯБДК, ассоциированных с *H.pylori*, а также разработки дифференцированных программ лечения и профилактики заболевания. Однако очевидно, что разработка эффективных методов *контроля* язвенной болезни, ассоциированной с *H.pylori*, лежит на пути изучения молекулярно-генетических механизмов формирования системы «паразит-хозяин» и предполагает крупномасштабные исследования молекулярно-генетических основ этого заболевания в разных регионах мира.

ВЫВОДЫ

1. Слизистая оболочка желудка всех обследованных больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки инфицирована *Helicobacter pylori*. Штаммы *H.pylori* с комбинацией генотипов *cagA*⁺ *vacAsI*⁺, определяющей высокую вирулентность хеликобактера, достоверно чаще встречаются у больных язвенной болезнью, ассоциированной с *H.pylori*.

2. У носителей аллели *IL-1B-511**C и генотипа *IL-1B-511**C/*C повышен риск развития язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*, а у носителей аллели *IL-1B-511**T и генотипа *IL-1B-511**C/*T, напротив, снижена вероятность формирования заболевания.

3. У носителей генотипа *IL-1RN**1/*2 понижена вероятность развития язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*.

4. У больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*, являющихся носителями комбинации генотипов *IL-1B-511**T/*C, *IL-1B+3954**C/*C, *IL-1RN**1/*1, *IL-10-1082**G/*G, достоверно реже встречаются высоковирулентные штаммы хеликобактера (*cagA*⁺ *vacAsI*⁺).

5. У больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H.pylori*, являющихся носителями генотипа *IL-1RN**1/*1, и/или инфицированных низковирулентными штаммами хеликобактера (*cagA*⁻ *vacAsI*⁻), вероятность самопроизвольного рубцевания язвенных дефектов выше, чем у носителей генотипа *IL-1RN**2/*2, и/или инфицированных высоковирулентными штаммами хеликобактера (*cagA*⁺ *vacAsI*⁺).

6. Слизистая оболочка желудка 19% больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной *H.pylori*, инфицирована *Mycoplasma hyorhinae*. Сочетанная (*H.pylori*+*M.hyorhinae*) инфекция достоверно чаще встречается у носителей комбинации генотипов *IL-1B-511**T/*T, *IL-1B+3954**C/*C, *IL-1RN**2/*2, *IL-10-1082**A/*G.

7. Характер патологических изменений ультраструктуры СОЖ различается у больных язвенной болезнью в зависимости от генотипов *H.pylori*, полиморфных локусов генов цитокинов (*IL-1* и *IL-10*), а также наличия сочетанной (*H.pylori*+*M.hyorhinae*) инфекции.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Чернова О.А. Инфекция *Helicobacter pylori*: генотипы, реактивность и особенности патогенеза / О.А.Чернова, Р.А.Абдулхаков, **Э.Р.Насыбуллина (Абузарова)**, В.М.Чернов // Технологии генодиагностики в практическом здравоохранении: Сб. трудов. – М., 2002. – С.274-276.
2. Абдулхаков Р.А. Инфекция *Helicobacter pylori*: синергенты, генотипы, полиморфизм и иммунореактивность / Р.А.Абдулхаков, О.А.Чернова, **Э.Р.Насыбуллина (Абузарова)** и др. // Педиатрия. – 2002. – № 2. – С.19-22.
3. Абдулхаков Р.А. Распространенность различных штаммов *Helicobacter pylori* у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки / Р.А. Абдулхаков, В.М.Чернов, **Э.Р.Насыбуллина (Абузарова)** и др. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2002. – № 1. – С.112.
4. Abdulhakov R. Prevalence of different *Helicobacter pylori* strains among the patients with peptic ulcer disease / R.Abdulhakov, V.Chernov, **E.Nasybullina (Abuzarova)** et al. // Disease Progression and Carcinogenesis in the Gastrointestinal Tract (Falk Symposium): Abstracts of Symposium. – Freiburg, 2002. – P.3.
5. **Насыбуллина (Абузарова) Э.Р.** Распространенность различных штаммов *Helicobacter pylori* у больных с гастродуоденальной патологией / Э.Р. Насыбуллина (Абузарова), Р.А.Абдулхаков, О.А.Чернова и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии: мат. VI Межд. симпозиума «Диагностика и лечение заболеваний, ассоциируемых с *Helicobacter pylori*». 26-27 мая 2003 г. – Екатеринбург, 2003. – Т.ХIII. – №3. – С.10.
6. **Nassybullina (Abuzarova) E.** *Helicobacter pylori* genotypes in patients with gastric and duodenal ulcer / E.Nassybullina, V.Chernov, R.Abdulkhakov et al. // XVIth International Workshop of European Helicobacter Study Group. – Sweden, 2003. – P.136.
7. Абдулхаков Р.А. Распространенность различных штаммов *Helicobacter pylori* у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки / Р.А. Абдулхаков, В.М.Чернов, **Э.Р.Насыбуллина (Абузарова)** и др. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2003. – № 1. – С.78-79.
8. **Насыбуллина (Абузарова) Э.Р.** Распределение генотипов *Helicobacter pylori* среди пациентов с гастродуоденальной патологией / Э.Р.Насыбуллина (Абузарова), Р.А.Абдулхаков, О.А.Чернова и др. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2004. – №1. – С.126-132.
9. **Насыбуллина (Абузарова) Э.Р.** Особенности генетического полиморфизма геликобактерий при гастродуоденальной патологии у пациентов г. Казани / Э.Р. Насыбуллина (Абузарова), Р.А.Абдулхаков, О.А.Чернова и др. // Мат. IX Всероссийской научн.-практ. конф. «Молодые ученые в медицине». 20-21 апреля 2004г. – Казань, 2004. – С.134.
10. **Насыбуллина (Абузарова) Э.Р.** Распределение генотипов *Helicobacter pylori* среди больных с гастродуоденальной патологией / Э.Р. Насыбуллина (Абузарова), О.А.Чернова, Р.А.Абдулхаков и др. // Мат. 8-й Межд. Пущинской школы- конференции молодых ученых. – Пущино, 2004. – С.156.

11. Чернова О.А. Особенности полиморфизма генов вирулентности *Helicobacter pylori* и генов ИЛ-1 при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *Helicobacter pylori* / О.А.Чернова, Р.А.Абдулхаков, **Э.Р.Насыбуллина (Абузарова)** и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2005; прилож. 2. – С.31-36.
12. **Nassybullina (Abuzarova) E.** Interleukin-1 family genes polymorphysm among the patients with *Helicobacter pylori*-associated ulcer disease / E.R.Nasybullina, O.V.Gorshkov, R.A.Abdulhakov et al. // VIIIth International Euroasian Congress of Surgeons and Gastroenterologists: Book of Abstracts. – Tbilisi, 2005. – P.38.
13. Chernova O.A. Genotypes of the *Helicobacter pylori* isolates and the IL-1 genes in Kazan citizens (Kazan, Russia) with gastric and duodenal ulcer / O.A.Chernova, **E.R.Nasybullina (Abuzarova)**, V.M.Chernov et al. // Electron. J. Biomed. – 2006. – Vol.1. – P.32-42.
14. Шаймарданова Г.Ф. Ультраструктура эпителиоцитов у больных язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки при сочетанной инфекции *H.pylori* и *U.urealyticum* / Г.Ф.Шаймарданова, Ф.А.Абдрахимов, **Э.Р.Насыбуллина (Абузарова)** и др. // Мат. XXI-ой Российской конференции по электронной микроскопии. – Черногловка, 2006. – С.278.
15. **Абузарова Э.Р.** Полиморфизм генов вирулентности *Helicobacter pylori* и цитокинов (*IL-1* и *IL-10*) у носителей геликобактерий при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / Э.Р.Абузарова, А.Р.Шакирова, А.А.Музыкантов и др. // Тез. докл. XII-ой Всеросс. научн.-практ. конф. с межд. участием «Молодые ученые в медицине». – Казань, 2007. – С.79.
16. **Abuzarova E.R.** Polymorphism of *Helicobacter pylori* genotypes and cytokines (*IL-1* and *IL-10*) in patients with gastric and duodenal ulcer / E.Abuzarova, R.Abdulhakov, O.Gorshkov et al. // *Helicobacter*. – 2007. – Vol.12. – N4. – P.401.
17. Исаева Г.Ш. Выявление *Helicobacter pylori* у больных с гепатобилиарной патологией / Г.Ш.Исаева, О.К.Поздеев, **Э.Р.Абузарова** // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология: мат. VIII съезда Научного общества гастроэнтерологов России. Москва, 4-7 марта 2008 г. – 2008 г. – №1; прилож. №1. – С.143-144.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГДП	–	гастродуоденальная патология
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
СОЖ	–	слизистая оболочка желудка
ЯБ	–	язвенная болезнь
ЯБДК	–	язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки
ЯБЖ	–	язвенная болезнь желудка
<i>vacA</i>	–	<u>va</u> cuolating <u>cy</u> totoxin A (ген, кодирующий вакуолизирующий цитотоксин)
<i>cagA</i>	–	<u>cy</u> totoxin- <u>a</u> ssociated g ene A (ген, кодирующий маркер островка патогенности <i>H.pylori</i>)

<i>iceA</i>	–	<u>i</u> nduced by <u>c</u> ontact with <u>e</u> pithelium (ген, кодирующий белок, индуцируемый контактом хеликобактера с эпителием)
<i>babA2</i>	–	<u>b</u> lood group <u>a</u> ntigen- <u>b</u> inding adhesin (ген, кодирующий белок (адгезин), связывающий антигены группы крови)
IL	–	интерлейкин
<i>IL-1B-511C>T</i> , <i>IL-1B+3954C>T</i>	–	полиморфизм гена <i>IL-1B</i> , обусловленный однонуклеотидными заменами в положении -511 и +3954, соответственно
<i>IL-10-1082G>A</i>	–	полиморфизм гена <i>IL-1B</i> , обусловленный однонуклеотидными заменами в положении -1082
<i>IL-1RN(VNTR)</i>	–	полиморфизм гена <i>IL-1RN</i> , обусловленный изменениями числа копий повторяющихся последовательностей